

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ И ОСТЕОАРТРОЗЕ

*Гидранович Л.Г., Пекарская О.А., Кирпиченок Л.Н.
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Развитие воспалительного процесса при ревматоидном артрите находит отражение в изменении биохимических и иммунологических показателей синовиальной жидкости и сыворотки крови [1]. Протеиназы, освобожденные при воспалении, ответственны за деградацию хрящевого и костного матрикса, деструкцию окружающих тканей, что способствует хронизации воспалительного процесса [2]. Поэтому изучение протеиназо-ингибиторных взаимоотношений при ревматоидном воспалении представляет значительный научный и практический интерес. Наиболее выраженные изменения ферментативно-ингибиторного баланса ожидаются локально в синовиальной жидкости [2,3]. Следовательно, разработка методов исследования состояния протеиназо-ингибиторной системы в синовиальной жидкости является актуальной.

Нами разработан метод определения протеолитической активности (ОПА), активности $\alpha 2$ -макроглобулина (МГ) и $\alpha 1$ -антипротеиназного ингибитора (АПИ) в синовиальной жидкости. В

основу определения интенсивности протеолиза в синовиальной жидкости положен метод исследования активности протеолитических ферментов и их эндогенных ингибиторов в сыворотке крови [4]. Суть предлагаемой нами модификации заключается в том, что для стандартизации выражения активности ферментов и ингибиторов синовиальную жидкость освобождают от клеток, затем при необходимости разводят, интенсивность протеолиза исследуют в надосадочной жидкости и выражают в единицах на мг белка. Синовиальную жидкость собирали по 0,5 мл, замораживали и хранили при -20°C в течение 2-4 недель. После размораживания жидкость центрифугировали при 5000 об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость отсасывали и обозначали как бесклеточный экстракт синовиальной жидкости. Полученные фракции синовиальной жидкости разводили изотоническим раствором NaCl для исследования АПИ и МГ – в 3 раза. Схемы хода определения приведены в табл. 1, 2.

Особенностью разработанного метода является также постановка для каждой пробы своего контрольного образца. В контрольные пробы исследуемую жидкость вносили одновременно с опытной, но либо не добавляли субстрат до инкубации (для АПИ, МГ), либо реакцию сразу же останавливали (для ОПА). Сохранение исходного и конечного инкубационных объемов достигалось добавлением аналогичных объемов 155 мм раствора NaCl. После каждого этапа внесения реагентов пробы тщательно перемешивались.

Измерение всех проб проводят при 410 нм против дистиллированной воды. Вводится также поправка к экстинкции при 550 нм [5]. При расчете активности учитывается разведение исходного материала [6]. С помощью данного метода исследована активность протеиназ и их ингибиторов в синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом (РА) и остеоартрозом (ОА) ($n=15$). Установлено, что изменения в системе протеиназы-ингибиторы в синовиальной жидкости при РА и ОА носят разнонаправленный характер и зависят от степени выраженности деструктивных процессов.

Исследована общая активность протеолитических ферментов (ОПА) и их ингибиторов ($\alpha 1$ - антипротеиназного ингибитора и $\alpha 2$ -макроглобулина) в сыворотке крови 174 больных ревматоидным артритом и остеоартрозом. Количественная характеристика интенсивности протеолиза при данных заболеваниях различна, вне обострения воспалительных процессов эти изменения менее выражены. При остеоартрозе протеолитическая активность увеличивается только в период обострения, что свидетельствует о

вовлечении протеиназ в воспалительные процессы. Содержание ингибиторов протеиназ в сыворотке крови изменяется адаптивно протеолитической активности.

Таким образом, нами модифицирован метод определения общей протеолитической активности и содержания эндогенных ингибиторов протеиназ для исследования синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом и остеоартрозом. Результаты исследования показывают, что активность протеиназ, их эндогенных ингибиторов в синовиальной жидкости при остеоартрозе и ревматоидном артрите зависит от степени выраженности деструктивных процессов.

Литература:

- [1] Бобков В.А., Брыленкова Т.Н., Моисеенко Р.С. // Терапевтический архив. – 2000 - № 12. – с. 35-38.
- [2] Данилова Т.Г., Платонова Л.В., Пасхина С.Т. // Вопросы мед. химии – 1993. - № 3. – с. 40-43.
- [3] Дубровин С.М., Муромцев А.В., Новикова Л.И. // Клин. лаб. диагностика. – 2000 - № 6. – с. 3-7.
- [4] Erlanger B.F., Kokowsky N., Cohen W. // Arch Biochem. Biophys. – 1961. – V 95 - № 2. – p. 271-278
- [5] Карягина И.Ю., Зарембский Р.А., Балябина М.Д. // Лабораторное дело. – 1990. - № 2. – с. 10-13.
- [6] Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. А.А.Покровского – М., 1969. – с 206-210.